

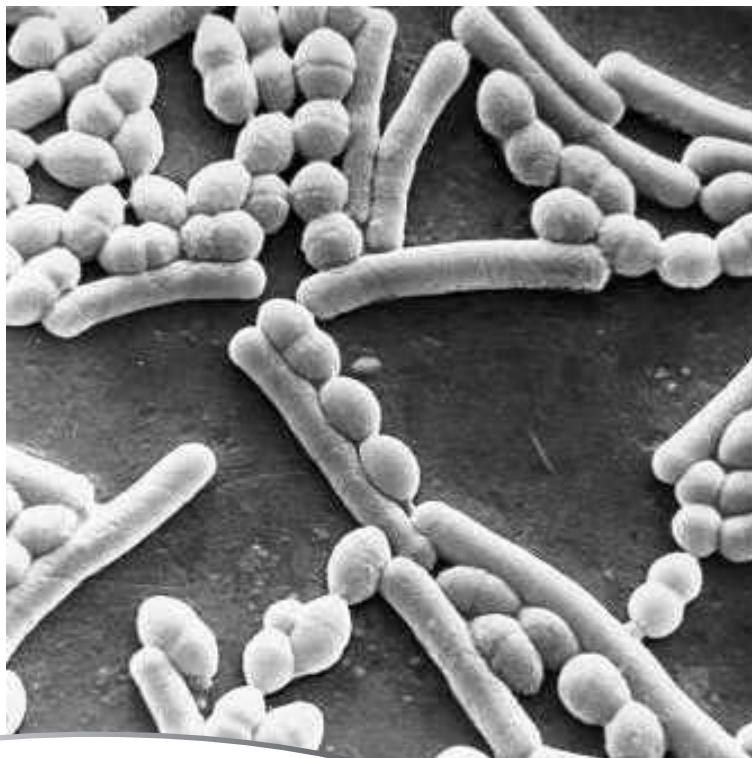


Forschungsbereich „Milch, Käse“

Diskussionsgruppen

Weiterbildung
Wissenstransfer
Erfahrungsaustausch

Milchsäurebakterien



*Ziel:
Kenntnisse über Milchsäure-
bakterien vertiefen*

Gruppen: Allgemein
Datum: Mai 2002

Zentrale Bedeutung der Milchsäurebakterien

Die Herstellung und der Einsatz der Kulturen setzt gute Kenntnisse der Milchsäurebakterien (Msb) voraus. Dazu soll die heutige Diskussionsrunde beitragen.

Diskussionspunkte sind:

- ⊙ Steckbrief und Gärschema
- ⊙ Mesophile Msb
- ⊙ Termophile Msb
- ⊙ Einsatz der Kulturen

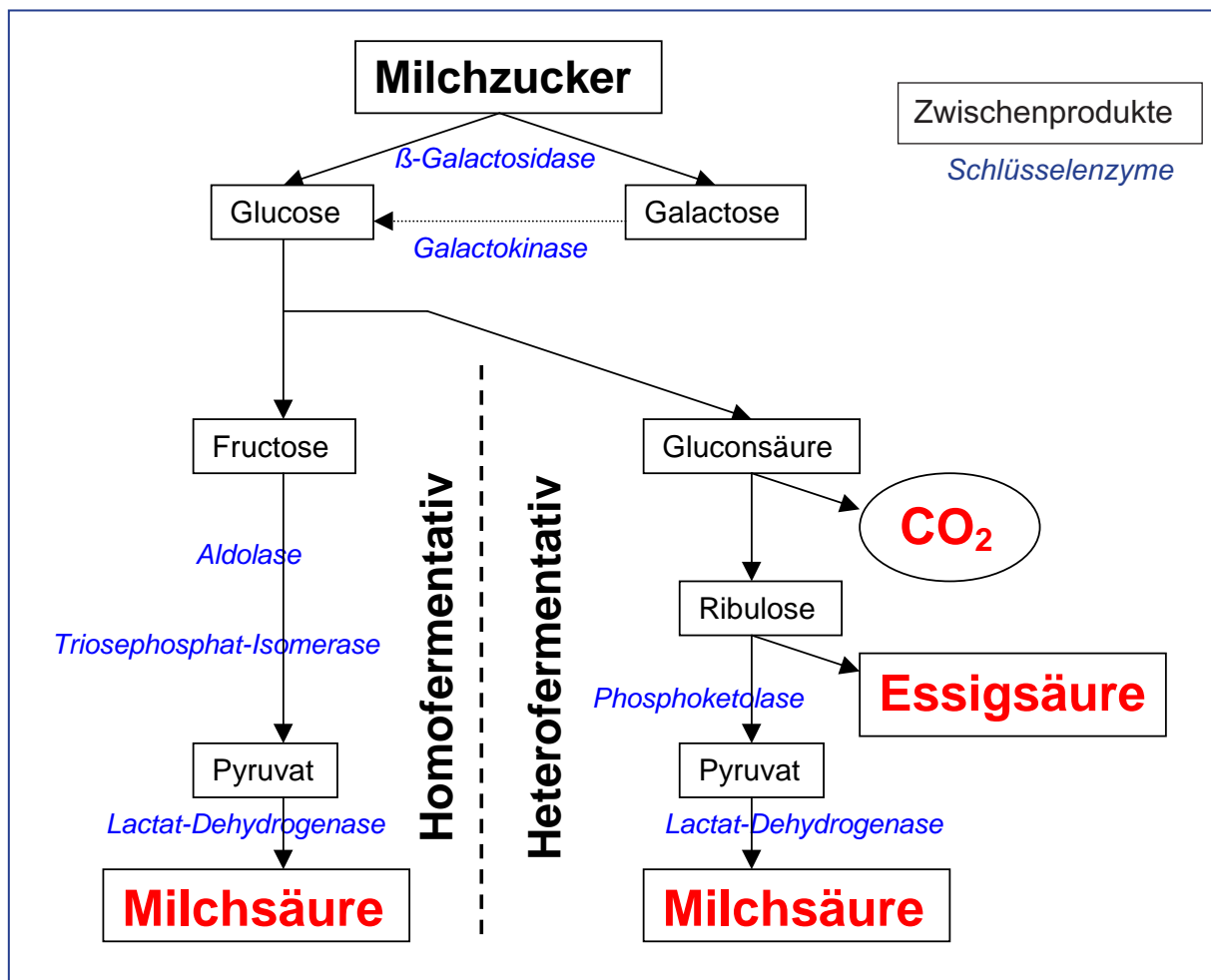
Steckbrief der Milchsäurebakterien

Die Milchsäurebakterien gehören zur Familie der Lactobacteriaceae und haben folgende Merkmale:

Physiologische Merkmale	Biochemische Merkmale
Stäbchen- und Kokkenform Gram-positiv unbeweglich bilden keine Sporen	anaerob säuretolerant benötigen Kohlenhydrate, Vitamine und Aminosäuren

Stoffwechselwege

Nach ihrer Eigenschaft, Glucose entweder nur zu Milchsäure oder daneben auch zu anderen Gärprodukten und Kohlendioxid zu vergären, teilt man sie in homo- und heterofermentative Milchsäurebakterien ein. Das Gärschema zeigt vereinfacht die zwei Wege.



Die Milchsäuregehalte werden enzymatisch bestimmt. Jeder Käser kennt seine Werte. Mittelwerte 2001 in Käse nach 24 Stunden (Labor biochemische Analytik, FAM):

Sorte	Milchsäuregehalt in mmol/kg	Standard- Abweichung	Anzahl Werte	Menge pro Laib in g
Emmentaler	126	4.6	1189	1130
Appenzeller	134	7.5	274	84
Tilsiter	137	9.5	52	55
Gruyère	145	7.8	321	450
Sbrinz	143	6.2	56	515

Die regelmässige Kontrolle des Milchsäuregehaltes ist ein Teil der Betriebsüberwachung.

Mesophile Milchsäurebakterien

Die für die Käserei wichtigen mesophilen Milchsäurebakterien werden in 2 Gruppen eingeteilt. Die Bezeichnungen der Milchsäurebakterien haben sich verändert.

homofermentative Streptokokken		heterofermentative Streptokokken	
Bezeichnung heute:	früher:	Bezeichnung heute:	früher:
<i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>lactis</i>	<i>Streptococcus lactis</i>	<i>Leuconostoc mesenteroides</i> ssp. <i>cremoris</i>	<i>Leuc. cremoris</i>
<i>L. lactis</i> ssp. <i>cremoris</i>	<i>S. cremoris</i>	<i>Leuc. mesenteroides</i> ssp. <i>dextranicum</i>	<i>Leuc. dextranicum</i>
<i>L. lactis</i> ssp. <i>diacetylactis</i>	<i>S. diacetylactis</i>	<i>Leuc. lactis</i>	<i>Leuc. citrovorum</i>

Überblick über die Eigenschaften der wichtigsten mesophilen Milchsäurebakterien:

Spezies	<i>Lactococcus lactis</i> ssp.			<i>Leuconostoc mesenteroides</i> ssp.	
	<i>lactis</i>	<i>cremoris</i>	<i>diacetylactis</i>	<i>cremoris</i>	<i>mesenteroides</i>
Milchsäuregärung	homofermentativ			heterofermentativ	
Milchsäure-Konfiguration	L+			D-	D-
Gebildete Säure	45 °SH			25 °SH	
Geschwindigkeit der Säurebildung	schnell			langsam	
Wachstumstemperatur* (Züchtungstemperatur)	20-30 °C (30 °C)			20-30 °C (25 °C)	
Citratvergärung	nein		ja		
Eiweissabbau	schwach				

* Das Wachstum ist abhängig von Faktoren wie Medium, pH etc. Merke: Das Temperaturoptimum für Wachstum ist nicht zwingend identisch mit dem Temperaturoptimum für Säurebildung.

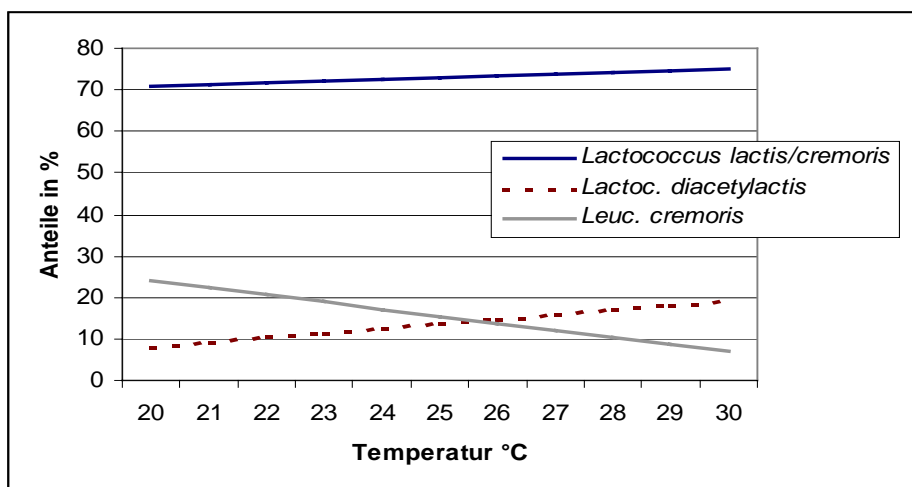
Mesophile Milchsäurebakterien werden bei der Käseherstellung vorwiegend für Halbhart- und Weichkäse eingesetzt. Bei der Hartkäsefabrikation werden mesophile Laktokokken ohne Gasbildung zur Milchreifung eingesetzt.

Dem Verwendungszweck entsprechend werden die Starterkulturen zusammengesetzt. Für die Kultureigenschaften sind die Stammauswahl und das Mischverhältnis entscheidend:

Eigenschaften	Vertreter Beisp. aus Kultursortiment der FAM	Einsatz
Säurebildung Keine CO ₂ oder Aromabildung	Lc 17, Lc MR	vorreifen beim Emmentaler und Halbhartkäse, Bestandteil der RMK 401, RMK 409 und RMK 2020
Säurebildung CO ₂ + Aromabildung aus Citrat	Lc L1	Lochbildung beim Halbhartkäse
Säurebildung CO ₂ + Aromabildung aus Milchzucker und Citrat	RSW 901	Pastmilchkäse, Quark Käse aus nicht pasteurisierter Milch: Vorreifung und Lochbildung

Besonderheiten beim Einsatz von mesophilen Kulturen

Mit der Wahl der Bebrütungstemperatur kann die Bakterienflora einer Mischkultur beeinflusst werden wie folgendes Beispiel einer Säureweckerkultur zeigt:



Mit steigender Bebrütungstemperatur ändert sich das Gleichgewicht der Bakterien, was zu einer Änderung der Aromabildung führen kann.

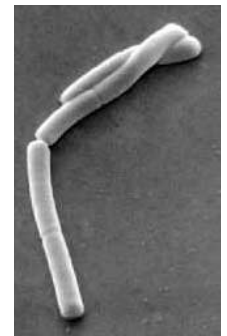
Leuconostoc können bei relativ tiefen Temperaturen (Salzbad) Milchzucker vergären. Nicht selten sind diese Spezies die Ursache für Vielsatz. Wesentlich für das Wachstum von *Leuconostoc* ist das Vorhandensein von Restzucker. Liegt nach dem Salzbad noch Zucker vor, muss unter Umständen mit Blähungserscheinungen gerechnet werden. **Achtung Betriebshygiene:** *Leuconostoc* können (ähnlich wie Enterobacteriaceen) Bestandteil der Betriebsflora oder Kontaminanten aus Rohmilch sein.

Lactococcus lactis ssp. *diacetylactis* spielt in Zusammenhang mit Nachgärungserscheinungen kaum eine Rolle. Diese Spezies ist nicht in der Lage, aus Milchzucker CO₂ zu bilden. Bei Temperaturen unter 15 °C erfolgt kaum noch nennenswertes Wachstum. Das aus dem Citrat gebildete CO₂ wird hauptsächlich während des Pressens und Abtropfens der Käse gebildet.

Thermophile Milchsäurebakterien

Bei den für die Milchwirtschaft wichtigen Milchsäurebakterien wird nach Gärungstyp zwischen 3 Gruppen unterschieden. Die untenstehende Tabelle zeigt Beispiele aus jeder der drei Gruppen.

homofermentative Laktobazillen und Streptokokken	fakultativ heterofermentative Laktobazillen	obligat heterofermentative Laktobazillen
<i>L. delbrueckii</i> ssp. <i>lactis</i>	<i>L. casei</i> ssp. <i>casei</i>	<i>L. fermentum</i>
<i>L. delbrueckii</i> ssp. <i>bulgaricus</i>	<i>L. rhamnosus</i>	<i>L. kefir</i>
<i>L. helveticus</i>	<i>L. plantarum</i>	
<i>S. salivarius</i> ssp. <i>thermophilus</i>		



Laktobazillen, elektronenmikroskopische Aufnahme

Bei der Käseherstellung sind vor allem die homo- und fakultativ heterofermentativen Bakterien von Bedeutung.

Eigenschaften der wichtigsten thermophilen Milchsäurebakterien:

	Homof. Streptokokken	Homofermentative Laktobazillen			Fak. heterof. Laktobazillen
Spezies	<i>S. salivarius</i> ssp. <i>thermophilus</i>	<i>L. delbrueckii</i> ssp. <i>lactis</i>	<i>L. delbrueckii</i> ssp. <i>bulgaricus</i>	<i>L. helveticus</i>	<i>L. casei</i> ssp. <i>casei</i> <i>L. rhamnosus</i>
Milchsäurekonfiguration	L+	D-		L+ und D-	L+
Gebildete Säure	35° SH	40 – 70 °SH	55 – 70 °SH	> 80 °SH	< 25 °SH
Wachstumstemperatur* (Züchtungstemperatur)	30 – 50 °C (38 °C)	20 – 50 °C (38 °C)			20 – 40 / 45 °C (38 °C)
Citratvergärung		nein			ja
Eiweissabbau	schwach	mittel		stark	mittel
Verwendung	Käse, Joghurt	Käse	Joghurt Halbhartkäse	regionale Käsesorten	Zusatzkultur für Käse

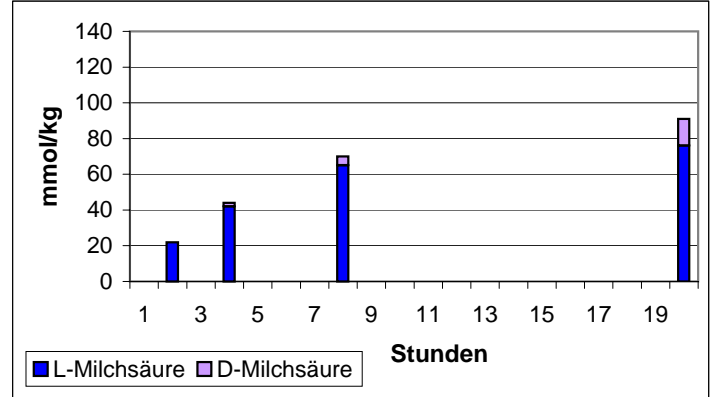
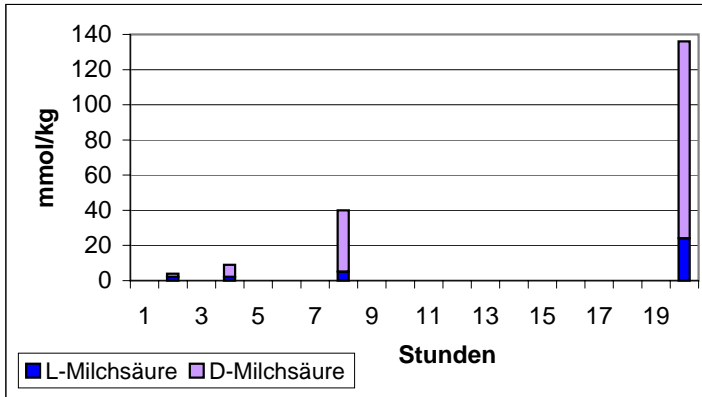
*Das Wachstum ist abhängig von Faktoren wie Medium, pH etc. Merke: Das Temperaturoptimum für Wachstum ist nicht zwingend identisch mit dem Temperaturoptimum für Säurebildung.

Thermophile Kulturen

Die thermophilen Kulturen haben die Aufgabe den Milchzucker im Käse innert 24 Stunden vollständig abzubauen. Damit dies geschehen kann, braucht es das Zusammenspiel von Streptokokken und Laktobazillen. Zwei Beispiele: Milchsäuregärung auf der Presse im Emmentaler:

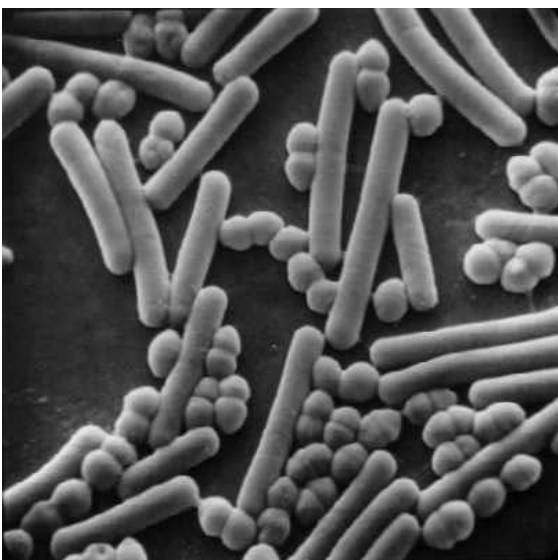
Was geschieht wenn die Streptokokken fehlen:

Was geschieht wenn die Laktobazillen fehlen:

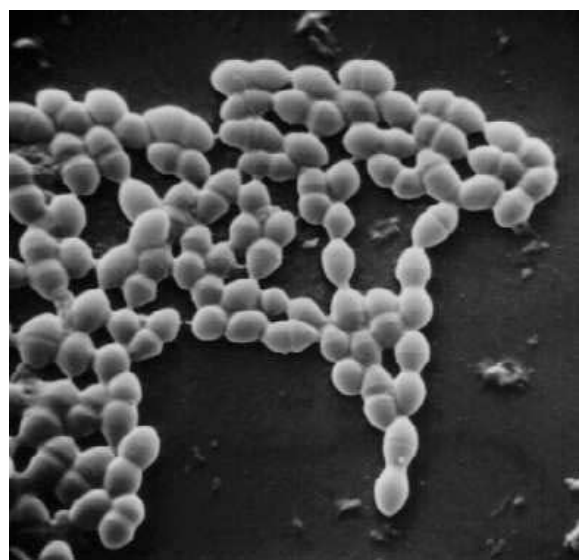


- ⊙ Verzögerte Milchsäuregärung auf der Presse
- ⊙ Ab 5 Stunden: Lb bilden Milchsäure
- ⊙ Erhöhter Gesamtmilchsäuregehalt im 20-stündigen Käse
- ⊙ Käse zu wenig trocken
- ⊙ Fehler:
 - unsaubere Lochung
 - schmieriger Teig
 - Gläs
 - saurer Geschmack
 - Fehler im Äussern

- ⊙ durch die Streptokokken normaler Milchzuckerabbau zu L-Milchsäure
- ⊙ Nach 4 h: verzögerte Bildung kleiner Mengen D-Milchsäure
- ⊙ Zu wenig Milchsäure nach 20 Stunden
- ⊙ Käse sind nass und säuern nach Presse weiter
- ⊙ Fehler:
 - trockener, kurzer Teig
 - nestige, unsaubere Lochung
 - beissender Geschmack
 - ungenügende Haltbarkeit
 - Fehler im Äussern



Elektronmikroskopische Aufnahme von RMK 302



Elektronmikroskopische Aufnahme von *Streptococcus salivarius* ssp. *thermophilus*

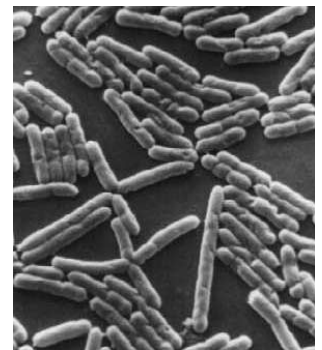
Mit FAM-Kulturen kann die Milchsäuregärung optimal gelenkt werden. Die nachfolgende Tabelle zeigt das Verhalten der FAM-Kulturen im Versuchsbetrieb Uettligen (Emmentaler, Durchschnittswerte von 6 Produktionen):

Kultur	101	105	115	124	150	164	190	302	170	401	650
Reduktase: h	5.8	5.0	4.7	5.5	5.5	5.7	5.0	5.1	5.7	5.0	5.9
Sonde 2h: °SH	10.1	10.1	10.6	8.8	8.1	9.6	7.0	10.0	10.1	10.2	9.9
LGM 22h: °SH	36	35	34	35	38	38	39	39	35	37	33
Wasser: g/kg	379	380	380	381	378	381	389	382	378	377	376
pH	5.26	5.27	5.26	5.27	5.28	5.28	5.28	5.28	5.26	5.27	5.29
GMS: mmol/kg	128	126	126	130	129	127	132	128	127	128	126
L-MS: mmol/kg	64	62	65	64	60	61	45	52	63	64	66
D-MS: mmol/kg	65	64	62	66	69	66	87	76	64	64	60
LAP: IE	2.1	1.5	1.7	2.2	2.3	2.2	1.4	1.4	2.0	2.0	1.4

- Prüfbedingungen:
- ⊙ Schüttmenge 3 ‰
 - ⊙ Schüttverhältnis 35 °SH : 50 °SH = 1 : 1
(RMK 115, 190 = 2 : 1)

Die FAM-Kulturen werden in flüssiger Form angeboten. Die Aktivität der Betriebskultur ist abhängig von:

- ⊙ Alter
- ⊙ Medium
- ⊙ pH-Wert / Säuregrad
- ⊙ Temperatur
- ⊙ Herstellungsbedingungen



Elektronenmikroskopische Aufnahme von *Lactobacillus casei*

FH Kulturen

Fakultativ heterofermentative Laktobazillen sind gärungstechnisch sehr interessant, weil sie technologisch vielseitig genutzt werden können. Bei der Citratvergärung entsteht Ameisen-, Essigsäure und CO₂.

- ⊙ Beim Halbhartkäse sind die FH-Kulturen gegen braune Tupfen (Prop-Kolonien und Enterokokkenhöfe) wirksam und können zusammen mit mesophilen Laktokokken-Kulturen Löcher im Käseteig bilden.
- ⊙ FH-Kulturen verbessern im Emmentaler die Haltbarkeit.
Der Milchsäuregehalt und die Milchsäurekonfiguration im 1 Tag alten Käse werden nicht verändert. Zusätzlich in die Kessmilch geimpfte FH-Kulturen hemmen neben den Propionsäurebakterien auch die Enterokokken und Salztoleranten im Käse. Wichtig dabei ist:
 - ⊙ die Keimdichte im 1 Tag alten Käse, mindestens 100'000 K/g
 - ⊙ der vollständige Citratabbau in den ersten 25 Tagen der Käsereifung, < 1 mmol/kg
 - ⊙ die Reaktion auf die Propionsäuregärung, mehr Ameisensäure und im Verhältnis weniger Propionsäure
- ⊙ Für den Gruyère und Sbrinz eignen sich die im FAM-Sortiment angebotenen FH-Kulturen nicht. Versuche bei beiden Käsesorten ergaben eine zu grosse bzw. unerwünschte Lochung und einen nicht typischen Geschmack.

Nachweis im Labor

Milchsäurebakterien allgemein

Der Nachweis erfolgt mit dem MRS Agar (Bebrütung 3 Tage) Dieser ist nicht selektiv und sagt somit nichts über die einzelnen Spezies aus. Eine zuverlässige Methode zum Nachweis und zur Zählung der mesophilen Milchsäurebakterien (Msb) in einem Gemisch mit thermophilen Msb existiert nicht. Der selektive Nachweis der mesophilen Msb alleine über die Temperatur ist nicht möglich, da die thermophilen Msb bei 30°C ebenfalls auf MRS-Agar wachsen. Allerdings wachsen mesophile Msb bei 30°C rascher als die thermophilen Msb. Diese Eigenschaft führt zu einer gewissen Selektivität der mesophilen Keime und kann allenfalls ausgenutzt werden, indem die Inkubationszeit entsprechend verkürzt wird.

Ein Nachweis im Käse ist nicht sinnvoll. Aufschlussreicher sind in diesem Zusammenhang biochemische Analysen wie pH (Rand / Innen), L+/D- Milchsäure, Galaktose, Citrat, Acetat, flüchtige Fettsäuren (GC).



Agarplatte mit Milchsäurebakterien



Mikrobiologisches Arbeiten im Labor

Fakultativ heterofermentative Laktobazillen

Die Basis des FH-Mediums bildet der MRS-Agar, sowie die Zugabe des Antibiotikums Vancomycin und das selektiv zu vergärende Mannit, als einzigem Zucker. Ausstrichverfahren. Inkubation 3 Tage, 37°C. Die Methode ist weniger geeignet für Milch.

Zukunft unserer
Kulturen:
Die FAM forscht
nach neuen Formen
der Konservierung!

*Unsere Kulturen sind
weltweit einzigartig!*